

THESIS

MUNICH

1965

Einfluß von Glykocholsäure
und Taurocholsäure auf Fettsäuresynthese
und -Cholesterinsynthese in vitro

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

von

Ivan Alexis Cepeda

1965

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

Einfluss von Glykocholsäure und Taurocholsäure
auf Fettsäuresynthese und -Cholesterinsynthese
in vitro

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt

von

Ivan. Alexis. Cepeda

aus

München

1965

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. Walter Seitz

Dekan: Professor Dr. med. Otto Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 6. 7. 1965

Einleitung

Die Gallensäuren sind Endprodukte des Cholesterin-Stoffwechsels und werden durch die Leber in die Galle ausgeschieden. In der Galle kommen sie gepaart mit Glykochol oder Taurin als Natriumsalze vor. Selten erscheinen sie in ungepaarter Form. Die gepaarten Gallensäuren sind durch eine säureamidartige Verbindung an die Amidgruppe der anderen Komponenten gebunden.

Das Vorhandensein von Glykochol oder Taurin als Partner der Gallensäuren ist unterschiedlich: Bei den Karnivoren, Vögeln, Reptilien und Fischen herrscht das Taurin vor.

Dank der verfeinerten Anwendung von Isotopen kann endgültig nachgewiesen werden, wie der Übergang des Cholesterins zu den Gallensäuren abläuft. Nach verbreiteter Auffassung geht das Cholesterin über die Desoxycholsäure in Cholsäure über, so dass die Gallensäuren nichts anderes darstellen als Nebenprodukte des Cholesterinabbaus.

Die Mannigfaltigkeit, in der wir im Gegensatz zu dem reinen Cholesterin, die Gallensäuren im Tierreich antreffen, lässt vermuten, dass der Abbau des Cholesterins zu den Gallensäuren sicher nicht einheitlich von statten geht. Anhand von C¹⁴-markierten Gallensäuren kann gezeigt werden, dass sie einem enterohepatischen Kreislauf unterliegen. Verschiedene

Autoren (1) weisen nach, dass die Gallensäuren nach oraler Verabreichung rasch im Darm resorbiert werden. Diese Resorption findet vor allem im Ileum statt, während sie im Duodenum nicht zu beobachten ist.

Ausserdem wurde die Resorption von Taurocholsäure und Glykocholsäure, die jeweils am 24 Kohlenstoffatom markiert waren, bei Ratten mit einer Gallen- und einer lymphatischen Fistel beobachtet. Dabei wurde festgestellt, dass die Gallensäuren sehr viel rascher in der Galle erschienen, während in der Lymphe nur geringe Spuren an Taurochol- bzw. Glykocholsäure angetroffen wurden. Zwei Stunden nach Verabreichung der Gallensäuren waren bereits 90 % davon in der Galle vorhanden (2).

Abschliessend erscheint es nötig, auf die Rolle des reticuloendothelialen Systems (RES) bei der Bildung und Ausscheidung der Gallensäuren aufmerksam zu machen: Wenn man dieses System hemmt und danach die Gallensäuren intravenös verabreicht, beobachtet man eine merkliche Verminderung der Sekretion der Gallensäuren, was darauf schliessen lässt, dass die Zellen des RES dafür verantwortlich sind (3).

Die Bedeutung der Gallensäuren

Nachdem der hemmende Einfluss verschiedener Gallenbestandteile auf die Fettsäuresynthese und die Cholesterin-

synthese nachgewiesen wurde, soll in der vorliegenden Arbeit der Einfluss der Gallensäuren (Glykochol- und Taurocholsäure) auf diese Synthesen geprüft werden. Als Einleitung zu den hierzu erhaltenen Ergebnissen seien einige wichtige Experimente, die mit Gallensäuren durchgeführt werden, angeführt:

Am Froschherzen kann beobachtet werden, dass kleine Dosen an Glykocholat (0,05 mg) ein Ansteigen der kontraktilen Kraft des Herzmuskels bewirken. Die entgegengesetzte Wirkung wird durch grössere Mengen erzielt. Die gleiche Menge an Taurocholat (0,05 mg) zeigt keinerlei Veränderungen der Herzkontraktion. Ausserdem sei darauf hingewiesen, dass nach Verabreichung dieser beiden Substanzen sowohl beim Menschen als auch beim Kaninchen keine Abweichungen im EKG sichtbar werden (4).

Ebenso hat sich eine Auswirkung der Gallensäuren auf die Blutgefässe zeigen lassen. Glykocholat, Taurocholat und Dehydrocholat vergrössern die Erweiterungsfähigkeit der Kapillaren und die Engerstellung der Arteriolen und Venolen. In der Vasokonstriktion erwiesen sich Glykocholat und Taurocholat wirksamer als Dehydrocholat (5).

Auf den Blutdruck nahmen Glykocholat und Taurocholat nach intravenöser Einspritzung ebenfalls Einfluss. Sie verminderten den systolischen Wert und erhöhten den der Diastole. Diese Veränderungen dauerten einige Zeit an

und verschwanden zwei Stunden nach der Injektion. (6)
Wird eine Lösung von Natriumglykocholat-Taurocholat
und Dehydrocholat intravenös gespritzt, so erhöht
sich die Harnstoffausscheidung beim Menschen. Eine
Stunde nach der Einspritzung erreicht die Ausscheidung
ihren Höhepunkt. Unter den gleichen Bedingungen, d.h.
nach Injektion derselben Gallensäuren, stellt man so-
wohl bei gesunden Personen als auch bei Patienten mit
verschiedenen Krankheiten eine Herabsetzung der Wasser-
resorption durch die Nierentubuli fest. Diese erhöhte
Ausscheidung hält nur vorübergehend über einige Stunden
hinweg an, so dass die Gesamtharnmenge nach 24 Stunden
kaum beeinflusst wird. Aufgrund dieser Beobachtung kann
man sagen, dass sich die Gallensäuren bei Patienten
mit Leber-, Herz- oder Nierenleiden wie Diuretika ver-
halten können.

Ferner wirken sich die Gallensäuren auf die Nierenfunktion
dahingehend aus, dass sie beim Gesunden eine Steigerung
der Proteinmenge im Urin hervorrufen. Die gleiche Wirkung
stellt man bei Patienten mit Nephritis oder Nephrose ein
bis zwei Stunden nach der Injektion fest. Es ist allgemein
anerkannt, dass das Auftreten einer Albuminurie auf einem
erhöhten Durchtritt von Proteinen durch die Bauman'sche
Kapsel beruht. Wenn daher die Gallensäuren mehr Protein
im Harn erscheinen lassen, darf man zu Recht annehmen,
dass sie die Permeabilität der Nierenmembran steigern.

Bei den angeführten Versuchen erweist sich das Glykocholat als wirksamste Substanz, dann folgen in der Reihenfolge ihrer Wirksamkeit das Taurocholat und das Dehydrocholat (7). Auf den Verdauungstrakt wirken sich die Gallensäuren folgendermassen aus: Intravenös oder oral verabreicht verstärken kleine Dosen an Natriumglykocholat, Taurocholat und Dehydrocholat die Magentätigkeit beim Kaninchen, während grössere Dosen die Motilität herabsetzen. Diese Steigerung (ausgenommen grössere Dosen) erhält man nur, wenn man die Gallensäuren auf die Mukosa des Magens aufbringt. An der Serosa führen sie zu einer Hemmung der Magentätigkeit. Der gleiche Autor (8) vertritt die Auffassung, dass die Gallensäuren direkt an der Magenmuskulatur und nicht am autogenen Nervensystem angreifen. Von den verwendeten Salzen zeigte sich das Dehydrocholat in seiner stimulierenden Wirkung als wirksamste Substanz, während das Glykocholat die stärkste Hemmung aufwies. Die Ergebnisse, die am Magen gefunden wurden, stimmen mit denen des übrigen Verdauungstraktes überein.

Methodik

Um die Versuche durchführen zu können benötigt man ein fettsäuresynthetisierendes Enzymsystem von besonders hoher Wirksamkeit, wie es ein Homogenat aus Taubenleber darstellt.

Zur Gewinnung dieses Homogenats verwendeten wir junge Tauben (bis zu 6 Monaten alt), die zuvor reichlich mit Weizenkörnern gefüttert worden waren. Dadurch wurde die Ausbeute an synthetisierten Fettsäuren und Cholesterin auf ein Maximum gebracht.

Bearbeitung des Enzymsystems

Morgens werden 4 oder fünf Tauben durch Scherenschlag dekapitiert. Zur Erhaltung der wirksamen Fermente wird die Leber sofort heraus präpariert und in Aqua dest. von 0°C gebracht. Nachdem die Leber vom Bindegewebe befreit worden ist, wird sie mit Filterpapier getrocknet und gewogen.

Zur Gewinnung eines zellfreien Enzymsystems (= Supernatant fluid) wird dem jeweiligen Lebergewicht ein Puffergemisch im Verhältnis 1 : 1,5 zugesetzt. Diese Pufferlösung besteht aus 11,876 g Na_2HPO_4 , 9,078 g KH_2PO_4 und 7,0 g KHCO_3 auf 1000 ml aqua dest. Nach Zugabe dieser Pufferlösung entspricht also ein Gramm Leber 0,8 ml

dieses Gemisches.

Dieses Gemisch wird dann im Potter-Elvehjem Homogenisator zerkleinert und dadurch werden gleichzeitig die Zellwände zerstört. Das so erhaltene homogene Leber-Puffer-Gemisch wird während 45 Minuten und bei 2000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert. Es bilden sich zwei Fraktionen. Der Überstand wird abgegossen und auf derselben Pufferlösung so verdünnt, dass 1 g Leber 2,4 ml dieser Verdünnung entspricht. Diese Lösung wird bei 25 000 U/Min. 75 Minuten lang abgeschleudert.

In Ermangelung einer Ultrazentrifuge konnte das Abschleudern bei 100 000 U./Min. das Brady und Gurin (9) fordern nicht durchgeführt werden. Daraus ergibt sich, dass der Überstand noch Mitochondrien und Mikrosomen enthält, obwohl auch er frei von gröberen Zellbestandteilen ist. Der Eiweisgehalt dieses "Supernatant Fluid" beträgt nach v. Brand und Helmreich (10) im Mittel $35,3 \text{ mg} \pm 2 \text{ mg}$, entsprechend 5,6 mg Stickstoff.

Inkubation

Dieser Vorgang spielt sich in Warburg-Gefäßen ab. Das Enzympräparat wird zusammen mit verschiedenen Reagentien im oben-angewiesenen Apparat vier Stunden bei 38°C inkubiert. Als konstante Zusätze verwenden wir Mg in der optimalen Konzentration von 6×10^{-3} , um das Enzymsystem zu aktivieren. Danach setzen wir 0,1 ml 0,01 m Na-citrat zu, was den Einbau von C^{14} -Acetat in höhere

Fettsäuren und Cholesterin ermöglicht. Ohne diesen Citrat-zusatz wird keine oder nur eine minimale Fettsäuresynthese erzielt.

Die Reihenfolge unserer Versuchsansätze lautet:

0,1 ml Mg^{12} 0,006 m.

0,1 ml Na-Citrat 0,01 m.

0,4 Akt. Acetat 0,008 m.

2,3 ml Enzymsystem

0,1 ml andere Zusätze (Versuchsansatz)

3,0 ml Gesamtvolumen.

Der PH-Wert dieses Gemisches beträgt 7,2 - 7,4 und soll während der Inkubation erhalten bleiben.

Darstellung von synthetisierten C^{14} Fettsäuren und C^{14}
Cholesterin

Gemäss den Vorschriften von Brady und Gurin (11) werden diese Ansätze aus den Warburg-Gefässen mit 5 ml aqua bidest. in ein birnenförmiges Schliffkölbchen angegossen und nach Zugaben von 5 ml 30 % Alkohol KOH und 25 mg Palmitinsäure auf Rückflusskühlung 4 Stunden lang verseift.

Die Palmitinsäure stellt die Trägersubstanz dar und soll später die Titration erleichtern. Danach lässt man die Lösung sich abkühlen und setzt ihr 15 - 20 ml Petroläther (Sdp. 30 - 50°C). Als Indikator dienen 5 Tropfen

Bromkresylgrün-Methylorange. Das Ganze wird in einen Scheidetrichter gefüllt. Zum Titrieren verwendeten wir 18 %iges HCL bis zum Farbumschlag. Mit Petroläther extrahiert man die vorhandenen Fettsäuren und das Cholesterin aus dem Verseifungsgemisch. Nach der Extraktion wird der überschüssige Petroläther im Wasserbad wieder eingedampft, so dass eine Lösung von 10 ml verbleibt. Diese 10 ml enthalten die isolierten Fettsäuren und Cholesterin.

Bestimmung der Radioaktivität der höheren Fettsäuren

Von dieser Lösung wird 1 ml auf ein Aluminiumplättchen (Durchmesser 2,5 cm), das mit Fliesspapier belegt ist, langsam aufgetropft.

Die Plättchen werden in das β -Fensterzählrohr zum Messen eingelegt.

Die Radioaktivitätsbestimmung geschieht nach der direkten Methode von Entenman (12). Dabei erfolgt die Messung mit dem β -Fensterzählrohr dünner Belegung (1mg/cm^2)² bei gleichem geometrischen Abstand und gleicher Arbeitsspannung. Die Aktivitäten werden in Impulsen/Min. angegeben, um die erhaltenen Werte vergleichen zu können.

C¹⁴-Cholesterin Bestimmung

Bis zur Messung der Fettsäuren laufen beide Methoden

parallel zueinander.

Aus der 10 ml Petroläther Lösung, welche die isolierten Fettsäuren bzw. das Cholesterin enthält, werden 5 ml im Wasserbad vollkommen eingedampft. Der Rückstand wird in 4 ml Bloor'scher Lösung (3 Teile Alkohol, 1 Teil Äther) gelöst, und mit Phenolphthalein als Indikator, durch langsames Zugabe von KOH alkalisch gemacht, bis ein Farbumschlag von farblos auf rot eintritt. Es folgt die Verseifung des Gemisches, die bei einer Temperatur von 37°C ca eine Stunde lang dauert. Mit 10 %iger Essigsäure wird leicht angesäuert. Mit einer 1%igen Digitoninlösung wird nach Zugabe von 5 mg Cholesterin zur besseren Abscheidung die Cholesterinfällung durchgeführt.

Die Lösung wird in einem Filterplättchen, das vorher gewogen wurde, abgeschieden und das Plättchen wird getrocknet, gemessen werden. Die C^{14} -Cholesterin enthaltenden Plättchen im Methandurchflusszählrohr.

Die Zahl von Impulsen werden pro Minute umgerechnet und jeweils auf das tatsächliche Gewicht und auf die Gesamtmenge bezogen angegeben.

Fütterungsversuche

Für diese Versuche benötigen wir Tauben, die früher ausreichend ernährt worden sind. Die Tauben bekommen 2 x täglich eine bestimmte Menge einer Gallensäure, und zwar 8 Tage lang.

Nach dieser Zeitspanne werden die Tauben dekapitiert und die Versuchsmethode wie bei den nicht gefütterten Tauben durchgeführt.

Versuchsergebnisse

Die folgenden Ergebnisse sind das Produkt eines Mittelwertes von verschiedenen Versuchen, die in unserem Laboratorium durchgeführt wurden. Durch diese Versuche soll gezeigt werden, wie die Gallensäuren (Glykochol und Taurochol) die Fettsäuresynthese und die Cholesterinsynthese beeinflussen. Es ist möglich, dass man bei den vorliegenden Ergebnissen bestimmte Unterschiede hinsichtlich der Aktivität feststellt, die bis zu einem gewissen Grad den Vergleich zwischen den verschiedenen Versuchen erschweren. Dies geht darauf zurück, dass die Ausgangsaktivität nicht immer gleich ist und sich in Abhängigkeit vom Gehalt an Fermenten ändert, (ATP.CoA) u.a., im Ausgangshomogenat. Dieses Ausgangshomogenat oder dieser Ausgangswert (Supernatant Fluid: sog. Sup.) versteht sich in unseren Versuchen immer mit 100 % mit dem Ziel die Ergebnisse, die man mit den verschiedenen Gallensäuren erhält zu vergleichen. Bei den Zeitversuchen wird der bei 180' erhaltene Sup-Wert als 100 % betrachtet.

Diese Ergebnisse wurden in 5 Tabellen aufgeführt. Tabelle I zeigt den hemmenden Einfluss der Glykocholsäure und Taurocholsäure auf die Fettsäuresynthese, die sich in Abhängigkeit von der Konzentration erhöht. Diese Hemmung beginnt unter einer Konzentration von 0,1 mg um schliesslich bei 5 mg den Höhepunkt zu erreichen.

Tabelle II zeigt uns die Wirkung der Gallensäuren auf die Menge der synthetisierten Fettsäuren unter verschiedenen Inkubationszeiten (siehe Methodik).

Man sieht, dass sich schon bei einer Inkubationszeit von 20 Min ein Grossteil dieser synthetisierten Fettsäuren zu bilden beginnen (48 % bis 56 %) bis schliesslich bei 180' die Synthese abgeschlossen ist.

Tabelle III gibt die Ergebnisse wieder die nach Zugabe von CoA (100 μ) zu den Gallensäuren erzielt wurden. Man stellt fest, dass sich der hemmende Einfluss der Gallensäure vermindert, ausgenommen bei der Konzentration von 5 mg dort, wo die Menge der synthetisierten Fettsäuren Null ist.

Tabelle IV zeigt die Menge der synthetisierten Fettsäuren in der Leber der Tauben, welche mit Gallensäuren gefüttert wurden. Auch hier erweisen sich die Gallensäuren als Inhibitoren der Fettsynthese.

Tabelle V registriert die Werte, die bei der Cholesterinsynthese erzielt wurden und die auch eine bemerkenswerte Verminderung ergeben, wenn man sie mit dem Normalwert vergleicht (Sup.)

Tabelle I:

Der hemmende Einfluss der Glykochol- und Taurocholsäure auf die Fettsäuresynthese

1. Glykocholsäure

<u>Sup</u>	<u>10 mg</u>	<u>5mg</u>	<u>1mg</u>	<u>0,5 mg</u>	<u>0,3mg</u>	<u>0,1mg</u>
2827	0	21	672	1255	2430	2652
100 %	0 %	0 %	23 %	44 %	85 %	93 %

2. Taurocholsäure

<u>Sup</u>	<u>10 mg</u>	<u>5mg</u>	<u>1mg</u>	<u>0,5mg</u>	<u>0,1mg</u>
2612	0	0	785	1602	2299
100 %	0 %	0 %	30 %	61 %	88 %

Diese Ergebnisse stellen den Mittelwert von 21 Versuchen mit Glykocholsäure und 14 Versuchen mit Taurocholsäure dar.

Tabelle II:

Der Einfluss der Gallensäuren auf die Menge der synthetisierten Fettsäuren bei verschiedenen Inkubationszeiten (siehe Methodik)

1. Glykocholsäure:

180'	80'	40'
Sup Glyl.1mg	Sup Glyk.1mg	Sup Glyk. 1mg
3833 1519	3268 1112	2348 610
100 % 40 %	85 % 29 %	61 % 16 %

Tabelle II (Fortsetzung)

1. Glykocholsäure:

20'

Sup	Glyk. 1mg.
2165	406
56 %	11 %

2. Taurocholsäure:

180'		80'	
Sup.	Taur. 1 mg	Sup.	Taur. 1mg
4810	3040	4680	2641
100 %	63 %	97 %	54 %
40'		20'	
Sup.	Taur. 1 mg	Sup.	Taur. 1mg
3645	2240	2310	921
75 %	45 %	48 %	19 %

Tabelle III

Der Einfluss der Gallensäuren auf die Fettsäuresynthese
nach Zusatz von CoA (100 μ).

1. Glykocholsäure + CoA (100 μ)

Sup	CoA 100	5 mg Glyk.+ + 100 μ CoA	1mg Glyk.+ + 100 μ CoA	0,5Glyk.+ +100 μ CoA
2827	2285	-	1406	1656
100 %	80 %	-	50 %	58 %

0,3 mg Glyk.+
+ 100 μ CoA

2485
88 %

Tabelle III (Fortsetzung)

2. Taurocholsäure + CoA (100 μ)

Sup	CoA 100	5 mg Taur.+ + 100 μ CoA	1mg Taur.+ + 100 μ CoA	0,5mg Taur.+ + 100 μ CoA
3680	3200	-	2775	3120
100 %	87 %	-	74 %	85 %

Tabelle IV: Menge der synthetisierten Fettsäuren in der Leber der Tauben, die mit Gallensäuren gefüttert wurden

1. Glykocholsäure:

(Die Tauben wurden 3 x täglich mit je 30 mg Glykocholsäure (morgens, mittags und abends) und am Morgen 1 Stunde vor dem Schlachten gefüttert)

Sup. Normale Tauben	Sup. Gefütterte Tauben
2827	820
100 %	29 %

2. Taurocholsäure:

(Die Tauben wurden 3 x täglich mit je 30 mg Glykocholsäure (morgens, mittags und abends) und am Morgen 1 Stunde vor dem Schlachten gefüttert)

Sup. Normale Tauben	Sup. Gefütterte Tauben
2827	1592
100 %	56 %

Tabelle V:

Einfluss der Gallensäuren auf die Cholesterinsynthese

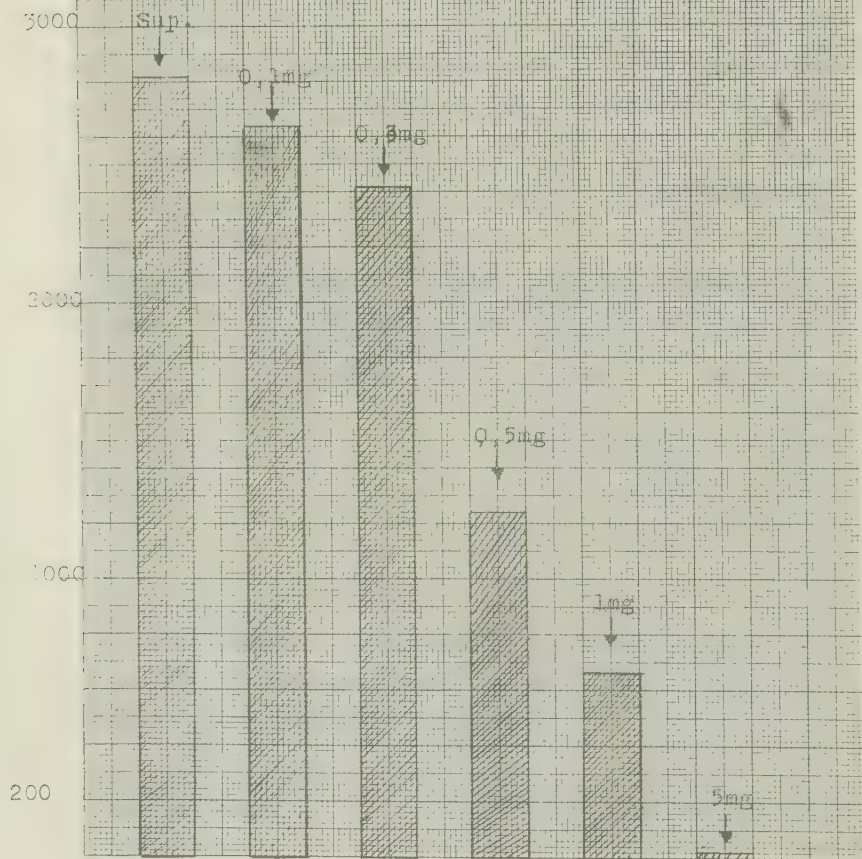
1. Glykocholsäure:

Sup.	10 mg	5mg	1mg	0,5mg	0,1mg
1402	142	170	907	1042	1036
100 %	10 %	12 %	65 %	74 %	74 %

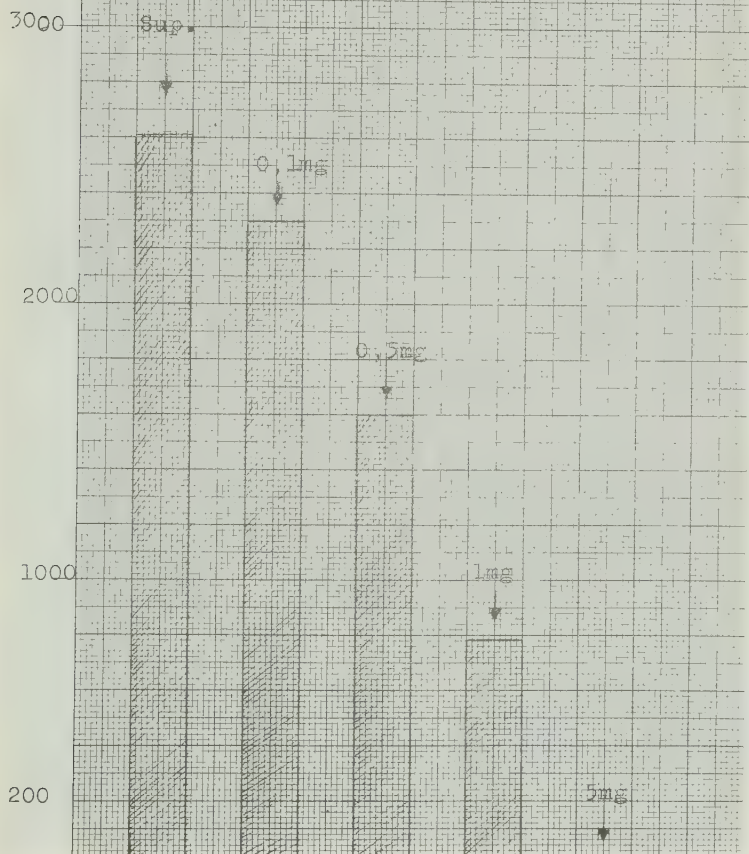
2. Taurocholsäure:

Sup	10 mg	5 mg	1mg	0,5mg
1034	131	186	748	1236
100 %	13 %	18 %	72 %	120 %

Einfluss der Glykoxaloessure
auf die Fettsauresynthese

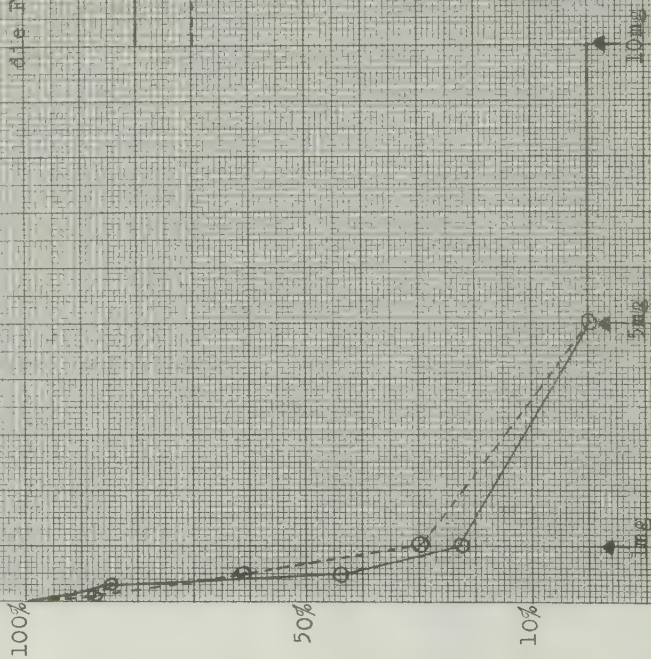


Einfluß der Neurocholesterole
auf die Fettsäuresynthese

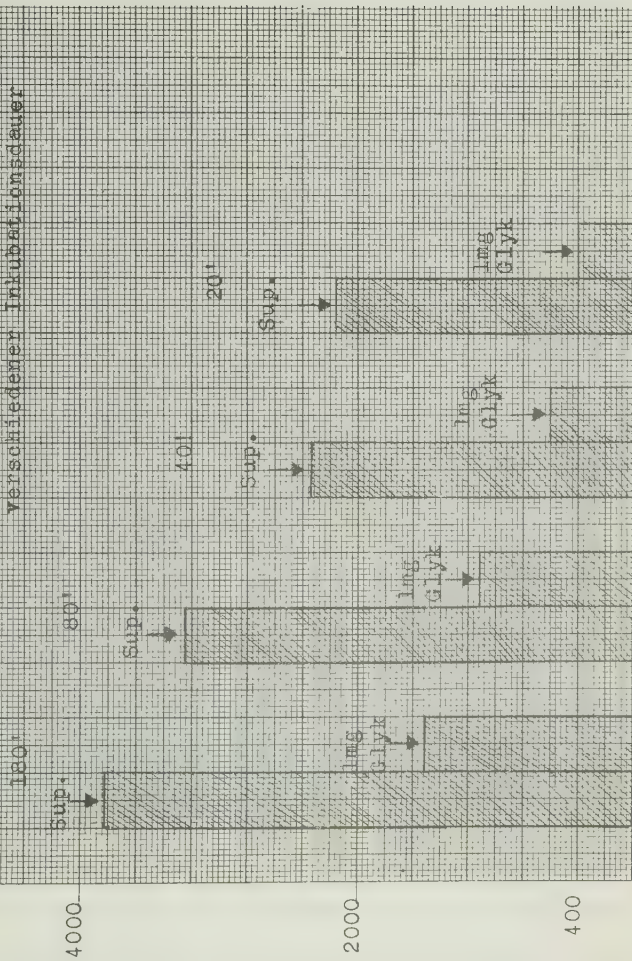


Prozentuale Hemmung der Glykocholsäure und Taurocholsäure auf
die Fettsäuresynthese

■ Glykocholsäure
— Taurocholsäure

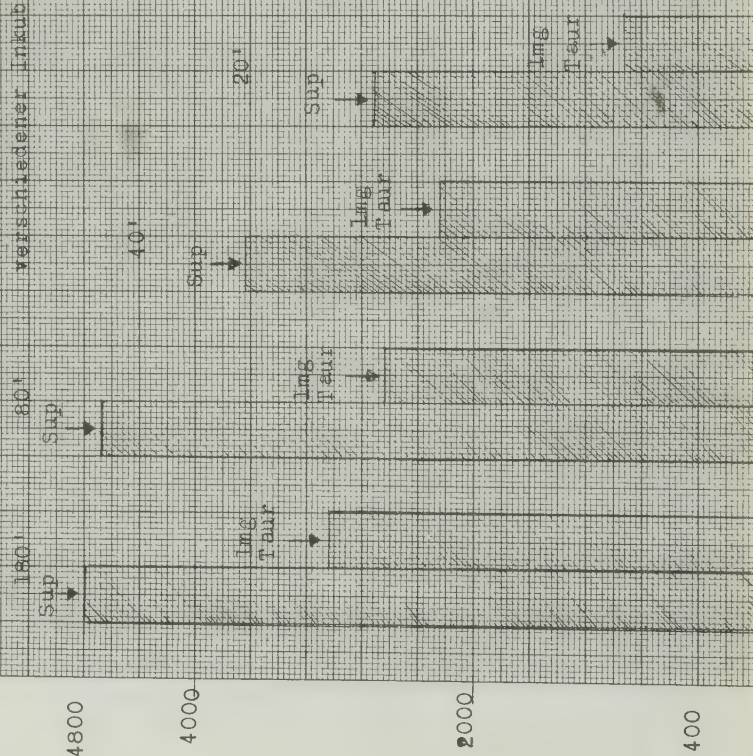


Einfluß der Glykocholelsäure auf die Fettsäure-synthese bei
verschiedener Inkubationsdauer



Einfluß der Tetrocholsäure auf die Perisäureoxydase bei

verschiedener Inkubationsdauer



Diskussion

Bei der vorliegenden Arbeit lässt sich mit Glykochol- und Taurocholsäure eine Hemmung der Fettsäure- und Cholesterinsynthese erreichen.

Glykocholsäure: Der hemmende Einfluss der Glykocholsäure auf die Fettsäuresynthese ist bereits bei einer Menge von 0,1 mg in 3 ml Sup (siehe Methodik) zu bemerken. Diese Hemmung nimmt mit steigender Konzentration der Glykocholsäure zu und zeigt sich als vollkommen, wenn in konstanter Supmenge (3,0 ml) 5,0 mg Glykocholsäure enthalten sind.

Taurocholsäure: Die inhibierende Wirkung der Taurocholsäure auf die Fettsäuresynthese stimmt grundsätzlich mit der Wirkung der Glykocholsäure überein. Die in dieser Arbeit vorgelegten Messwerte liegen etwas unterhalb der Hemmwirkung durch Glykocholsäure.

Zeitversuche: Die Hemmung der Fettsäuresynthese durch die Gallensäuren (Glykochol- und Taurocholsäure) verläuft mit der Fettsäuresynthese bei verschiedenen Inkubationszeiten parallel (Tabelle II). Die Wirkung auf die Fettsäuresynthese durch die Gallensäuren verhält sich in den einzelnen Inkubationsstufen nahezu konstant, wobei Glykocholsäure eine konstant grössere Hemmwirkung besitzt als Taurocholsäure.

CoA-Zusatz: Die inhibierende Wirkung der Gallensäuren auf die Fettsäuresynthese kann durch Zusatz von CoA vermindert werden. Diese Verminderung ist am stärksten, wenn im Sup. 0,5-1,0 mg Gallensäuren enthalten sind.

Fütterungsversuche: Hierbei erweist sich die Hemmwirkung der Glykocholsäure auf die Fettsäuresynthese als stärker als die der Taurocholsäure. Die Hemmung erreicht bei Glykocholsäure 79 % und bei Taurocholsäure 44 %.

Hemmung der Cholesterinsynthese: Die Hemmung der Cholesterinsynthese durch die Gallensäuren (Glykchol- und Taurocholsäure) zeigt Tabelle V. Allerdings ist selbst bei Zusatz von 10,0 mg der jeweiligen Gallensäure diese Hemmwirkung nicht ganz vollständig. Während bei Glykcholsäure sich bei Zugabe von 0,1 mg/Sup. noch eine deutliche Hemmwirkung erzielen lässt, erweisen sich 0,5 mg Taurocholsäure bereits als wirkungslos.

Wie die Gallensäuren auf den Fett- und Cholesterinmetabolismus einwirken hat verschiedene Autoren beschäftigt.

Masanori Monzen (13) konnte durch Gallensäuren (Cholsäure, Desoxycholsäure und Dehydrocholsäure) das Auftreten einer sonst durch cholinarme Kost hervorgerufenen Leberverfettung verhindern. Er vermutet auf Grund dieser Beobachtungen, dass die Gallensäuren die Cholin- und damit die Phosphatidsynthese beschleunigen.

Der gleiche Autor (14) konnte durch Gallensäuren (Cholsäure und Desoxycholsäure) die Fettablagerung in der

Rattenleber, die nach subtotaler Extirpation der Leber und nach subcutaner Injektion von ACTH regelmässig auftritt, hemmen. Dies führte ihn zu dem Schluss, dass die Gallensäuren eine Mobilisation und einen Transport der Fette von der Leber zu anderen Geweben bewirken könnten.

Nach der Beobachtung von Parfentjen und Mitarbeitern (15) aktiviert Taurocholsäure die Leber- und Pankreaslipase, ohne einen Effekt auf die Blutlipase auszuüben. Der Fettabbau bei der Autolyse verschiedener Organe, bes. der Leber, wird nach Ikoma (16) durch Gallensäuren beschleunigt. Auch Tsuji (17) berichtet von einer beträchtlichen Verminderung des Fettgehaltes der Kaninchenleber, nach oraler oder subcutaner Administration von Gallensäuren. Okii I. (18) zeigt, dass die Glykogenbildung aus Fettsäuren in der Leber durch Gabe von Gallensalzen beschleunigt wird. Matsuoka (19) demonstrierte durch Verabreichung von Taurocholat ein Absinken der Fettmenge in der Leber sowohl bei normalen wie bei chloroformvergifteten Kaninchen. Daida (20) fand nach intravenöser Injektion von Glykochol oder Taurocholsalzen beim Menschen eine Verminderung der Phosphatide und einen Anstieg des freien und des Gesamtcholesterins, wie auch der Ketonkörper im Blut. Dagegen stellte er keine messbare Veränderung der Cholesterinester und der Gesamtlipoide fest. Intravenöse Injektion von Glykocholsäure verursachte eine beträchtliche Verminderung der Neutralfette im Blut, während Taurocholsäure keine signifikante Veränderung erbrachte.

Kobayashi (21) beobachtete, dass die experimentelle Fettleber bei tetrachlorkohlenstoff- oder phosphorvergifteten Albinoratten, die eine fettreiche Ernährung bekamen, in gewissem Masse durch intravenöse oder orale Verabreichung von Glyochol- und Taurochol- und Dehydrocholsalzen verhindert werden konnte. Er stellte dabei fest, dass diese Gallensalze nicht nur die Ablagerung von Neutralfett in der Leber hemmen, sondern den degenerativen Prozess an der Leberzelle aufhalten und die Regeneration zerstörten Lebergewebes fördern. Der Autor kommt zu der Auffassung, dass die Gallensalze eine lipotrope Wirkung besitzen.

Nach dem übereinstimmenden Urteil der Autoren beeinflussen die Gallensäuren den Fett- und Cholesterinstoffwechsel. Über den Mechanismus, wie die Gallensäuren auf die Fettsäure- und Cholesterinsynthese einwirken, ist noch nichts Näheres bekannt. Die hier vorgelegte Arbeit erweist die hemmende Wirkung von Glykochol- und Taurocholsäure auf die Fett- und Cholesterinsynthese in der Leber, wobei Glykocholsäure den inhibierenden Effekt der Taurocholsäure übertrifft.

Zusammenfassung

Die hier vorliegende Arbeit untersucht in in-vitro-Versuchen den hemmenden Effekt von Glykochol- und Taurocholsäure auf die Fettsäure- und Cholesterinsynthese in der Taubenleber.

Verwendet wurden frische Leberhomogenate in optimalen Pufferlösungen, die ein hochpotentes Enzymsystem für die Fett- und Cholesterinsynthese darstellen. Durch Zugabe von C^{14} -Acetat kann die Menge des frisch synthetisierten C^{14} -markierten Fettes und Cholesterins ermittelt werden. Die Zugabe von Glykochol- bzw. Taurocholsäure erbringt eine erhebliche Inhibition der Fett- und Cholesterinsynthese. Glykocholsäure erweist sich als stärker hemmend als Taurocholsäure. Fütterungsversuche mit den erwähnten Gallensäuren zeigen eine entsprechende Wirkung auf die Fettsynthese.

Die erzielten Ergebnisse werden detailliert beschrieben und in Tabellen und graphischen Darstellungen zusammengefasst. Abschliessend wird eingehend zu den Ergebnissen anderer Autoren Stellung genommen. Dass die Gallensäuren eine hemmende Wirkung auf den Fett- und Cholesterinmetabolismus besitzen wird bestätigt.

Literaturverzeichnis

1. Letré - Inhoffen - Tschesch

Über Stearine, Gallensäure und verwandte Naturstoffe

Seite 156 (1954)

2. Sjövall J. Akesson

I acta physiol. Scand. (1955)

3. Hisashi Mikami Ibid

129 49 ref chem abstr 26 - 3565 (1932)

4. Joschinaka T.

J. of Hiross Med. Assoc. 2 399 (1949)

5. Ziro Uraki

Hirosch J. of med. Sci. Seite 98 vol 4 (1955)

6. Akagi Z.

Hirosch J. of Med. Sci. 179 (1952)

7. Takufi Fukuoka

Hirosch J. of Med Sci, Seite 365, vol 2 (1954)

8. Koshiro Sasaki

Hirosch J of Med. Sci., Seite 187, vol 3 (1954)

9. Brady, R. O. Gurin, S.

J. biol. chem. 199 421 52

10. v. Brand, V. Helmreich E
Biochem. Z. 328, 146, 56
11. Brady R. O., Gurin S
J biol chem 199 421
12. C. Entenman, S. R. Lerner, I.L. Chaikoff und W.G! Dauben
Proc. Soc. Exper. Biol. a Med 70 64 1949
13. Masanori Monzen
Hirosch J. Med. Sci. 4 Nr. 4 305, 1955
14. Masanori Monzen
Hirosch J. Med. Sci. 3 Nr. 1, 137, 1954
15. Pafentjew, I. A. Devrient, W.C. und Socoloff B.F.
J. Biochem 4 383, 1924
16. Ikoma S.
J, Biochem 4 383, 1924
17. Tsujik
Arb. Med. Fakult Okayama 2 279 1930
18. Okii I.
J. Biochem. 20 37 1934
19. Matsuoka
J. of Gastroenterology (Japan) 10. 38. 1935

20. Daida S.

J. of Jap. Soc. of Int. Med. 41. 105. (1952)

21. Kobayashi Z.

Hirosh J. of Med. Sci. 3. 307. (1955).

An dieser Stelle will ich Herrn Professor Dr. W. Seitz meinen Dank aussprechen für die Überlassung des Themas und auch dafür, dass er es mir ermöglichte, meine Versuche im Isotopenlaboratorium der Medizinischen Universitätspoliklinik durchzuführen.

Vielmals danken möchte ich auch Frau Dr.Dr. Vera Nagengast für ihre Hilfe bei der Durchführung der Versuche sowie bei der Erörterung der dabei auftauchenden theoretischen Fragen.

LEBENS LAUF

Geboren wurde ich am 23. Februar 1937 als Sohn des Rechtsanwelts Arturo Cepeda und seiner Frau Beatriz in Quito Ecuadora. Nach Besuch der Volksschulen in Quito, trat ich 1949 in das humanistische Gymnasium "Colejio Nacional Mejia" in Quito ein an dem ich mich 1955, der Reifeprüfung unterzog. Ich begann danach sofort das Studium der Medizin an der Universität Quito, nach 2 Semester, immatrikulierte mich 1956 an der medizinischen Fakultät der Universität München. Am 25. 10. 1963 bestand ich das Staatsexamen. Daraufhin betätigte ich mich als Medizinalassistent.

Hejeda

